

University of Groningen

Unusual variants of subepidermal autoimmune bullous diseases

Buijsrogge, Jacqueline Johanna Angela

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2011

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Buijsrogge, J. J. A. (2011). *Unusual variants of subepidermal autoimmune bullous diseases*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. [s.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

9

Nederlandse samenvatting (Dutch summary)

JJA Buijsrogge

Centrum voor Blaarziekten, Afdeling Dermatologie,
Universitair Medisch Centrum Groningen, Rijksuniversiteit Groningen,
Groningen, Nederland

Subepidermale autoimmuun bulleuze dermatosen (sAIBD) omvatten een groep blaarziekten door autoantilichamen die gericht zijn tegen eiwitten in de epitheliale basaalmembraan van huid en slijmvliezen. Er zijn verschillende types van sAIBD, waarvan sommige veel voorkomend zijn en andere meer zeldzaam. De meest voorkomende vormen van pemfigoïd zijn bulleus pemfigoïd, anti-BP180 slijmvliespemfigoïd en lineaire IgA dermatose. De meer zeldzame vormen van pemfigoïd zijn anti-laminine-332 slijmvliespemfigoïd, anti-laminine- γ 1 pemfigoïd en epidermolyse bullosa acquisita. De frequentie van de sAIBD subtypen is afhankelijk van het herkennen van bulleuze dermatosen, ook als ze niet met blaren gepaard gaan, en van de gebruikte laboratorium technieken en de behaalde detectiedrempels.

Dit proefschrift bevat mijn promotie onderzoek naar ongebruikelijke sAIBD varianten.

In **hoofdstuk 1** geven wij een overzicht van de sAIBD, noemen de frequenties en de laboratorium technieken om deze te diagnosticeren. Daarna worden de verschillen in immuunglobuline klasse bediscussieerd o.a. in het herkennen van epitopen door de verschillende pathogenen antilichamen.

Epidermolyse bullosa acquisita (EBA) is een sAIBD met autoantilichamen tegen type VII collageen. Twee klinische varianten van EBA worden beschreven: het klassieke mechanobulleuze type met trauma-geïnduceerde blaren met milia en dystrofische nagels en het inflammatoire type met acute blaren op erythemateuze bodem lijkend op BP of, minder vaak, op slijmvliespemfigoïd.

In **hoofdstuk 2** bestudeerden wij een uitzonderlijke casus met inflammatoire EBA, en tegenstrijdige diagnostische testen. De diagnose EBA van deze patient werd bevestigd met elektronenmicroscopisch onderzoek wat een splijtingsniveau in de sublamina densa zone liet zien. Later onderzoek bevestigde de diagnose op basis van u-serratie patroon van BMZ immuundeposities. Zout-gespleten huid toonde juist de aanwezigheid van IgA antilichamen in het dak van de blaar aan. Met immunoblot en 'knock-out' immunofluorescentie onderzoek konden we aantonen dat deze IgA antilichamen gericht zijn tegen plectine. Dat we geen circulerende antilichamen tegen type VII collageen vonden was niet zo vreemd, zoals we in hoofdstuk 6 zullen zien. Deze casus illustreert dat analyse van alleen serum tot de verkeerde diagnose leiden en pleit voor volledige analyse van zowel huid als serum bij sAIBD patiënten.

Hemidesmosomale eiwitten zijn vaak doeleiwit in sAIBD. Goed gekarakteriseerde autoantilichamen zijn het intracellulaire plaque eiwit BP230, het transmembrane BP180 of het afgesplitste domein LAD-1. In **hoofdstuk 3** beschrijven we een vierde hemidesmosomale eiwit en autoantigeen in sAIBD. Het eiwit is plectine dat, net als BP230, behoort tot de plakine eiwit familie en zowel voorkomt in desmosomen als hemidesmosomen. In een cohort van tweehonderd tweeëntachtig sAIBD patiënten vonden wij 11 patiënten met anti-plectine antilichamen met immunoblot, wat een relatieve frequentie geeft van 3.9% onder sAIBD. Verder bewijs voor de anti-plectine aard van deze antilichamen werd gevonden door affiniteitsgezuiverde antilichamen terug te binden aan normale huid in een patroon typisch voor plectine: langs de epidermale basale membraan zone (BMZ), rond keratinocyten in de epidermis, en aan myocyten. Dit bindingspatroon trad niet op in een huid biopst van een patiënt met plectine-

deficiënte epidermolysis bullosa simplex met spierdystrofie. De epitopen werden gemapt door immunoblot met recombinant geproduceerde overlappende plectine domeinen van het N-terminale actine bindingsdomein van het COOH-eind van het rod domein. Het centrale coiled-coil rod domein bleek de immuno-dominante hotspot in 10 van 11 sera. Verder vonden we dat de meeste patiënten met anti-plectine antilichamen ook antilichamen voor andere pemfigoïd antigenen hebben, en we concludeerden dat plectine zeldzaam auto-antigeen is in sAIBD.

Lichen planus is een chronische inflammatoire ziekte van de huid en slijmvliezen. De histopathologie van orale lichen planus (OLP) is vrij uniform: een prominent inflammatoir bandvormig ontstekingsinfiltraat met liquefactie van basale epitheliale cellen. In ons diagnostisch laboratorium worden sera van patiënten met afwijkingen in de mondholt gescreend voor pemfigus en pemfigoïd. Het viel ons toen op dat sommige patiënten met bewezen OLP zwakke IgG reacties tegen een 180-kDa eiwit hadden bij immunoblot, dat BP180 kan zijn. In **hoofdstuk 4** bestudeerden wij dit fenomeen in een grotere groep patiënten. In sera van zevenenvoertig opeenvolgende patiënten met bewezen OLP vonden wij acht (17%) sera die reageerden met het 180-kDa eiwit. Om aan te tonen dat dit om BP180 ging voerden wij verder immunoblot experimenten uit met celextract van BP180-deficiënte keratinocyten en met recombinant full-length BP180 en overlappende NC16A domein fragmenten. De serum reactiviteit met het 180 kDa eiwit ging verloren bij immunoblot op BP180-deficiënte keratinocyten extract. Vijf van de acht sera reageerden met recombinant full-length-BP180 en twee reageerden ook met het NC16A domein oligopeptide. De antilichaam titers waren laag, zodat er met indirecte immuunfluorescentie op apenoesophagus geen reactie was, en behalve één serum was alles negatief op zout-gespleten huid. Directe immunofluorescentie op de corresponderende huid bipten liet géén IgG deposities zien langs de BMZ. Klinisch en histologisch was er geen verschil tussen de acht OLP patienten die circulerende anti-BP180 antilichamen hadden en OLP patiënten die deze autoantilichamen niet hadden. Wij denken dat de ontwikkeling van autoantilichamen mogelijk een secundaire, humorale, respons is van BP180 door het chronisch ontstekingsproces veroorzaakt door de primaire cellulaire respons. Zo'n proces is bekend als het 'epitoo spreading' fenomeen. Of BP180 ook een pathogeen antigeen is voor T-cellen in OLP moet nog verder onderzocht worden.

Slijmvliespemfigoïd omvat een groep chronische subepitheliale autoimmuun bulleuze dermatosen waarbij er slijmvliesafwijkingen zijn, met risico op littekenvorming. De autoimmuun doeleiwitten zijn heterogeen, waaronder BP180 en laminin-332, de laatste eerder bekend als epiligrin. Als laminin-332 het antigeen is, wordt de ziekte anti-laminin-332 pemfigoïd genoemd of anti-epiligrine pemfigoïd. In **hoofdstuk 5** beschrijven wij een bijzondere casus van anti-laminine-332 pemfigoïd met blaarvorming van de huid, maar zonder slijmvliesdeelname. Immunoblot op humaan keratinocyten medium extract toonde bandjes van IgG antilichamen bij 200 en 165 kD, corresponderend met het propeptide en de verwerkte $\alpha 3$ keten van laminine-332. Er werden geen andere antigenen gevonden in het serum van de patiënt. De huidaandoening

verliep met een centrifugale golven van blaarvorming. Directe immunofluorescentie toonde een opvallende reductie van IgG deposities in de huid als de blaargolf gepasseerd was. Het verschil in IgG oplading langs de epidermale BMZ verklaart de centrifugale spreiding van de blaarvorming.

Het klinisch fenotype van EBA kan worden verdeeld in mechanobulleus en inflammatoir. In **hoofdstuk 6** onderzoeken we of er een relatie bestaat tussen het klinische fenotype en de klasse van *in vivo* gedeponeerde antilichamen. We voerden een prospectieven studie uit van patiënten, geselecteerd op het serratiepatroon van immuunglobuline BMZ deposities. In een cohort van 364 sAIBD patiënten vonden wij 20 (5.5%) patiënten met de diagnose EBA of bulleuze SLE(BSLE). Als we alleen patiënten op basis van serologische reactiviteit hadden geïncludeerd zouden er slechts 7 (1.9%) casus gevonden worden. Dit betekent dat, twee van de drie patiënten gemist zouden worden als er geen serratiepatroon analyse wordt toegepast op het IF biopt, omdat het serum geen detecteerbare autoantilichamen toont die passen bij EBA. Met behulp van serologische criteria konden we aanvullend 18 retrospectieve EBA/BSLE patiënten includeren uit de weefsel/serum opslag. Tweeëntwintig (63%) van deze 38 casus hadden het inflammatoire type dat lijkt op andere typen van sAIBD's. Wij zochten naar een mogelijke relatie van antilichaam klasse en klinische fenotype. In de groep van puur IgG respons was het mechanobulleuze fenotype overheersend (67%), terwijl vice versa in de groep van pure IgA respons het inflammatoire fenotype dominant was (91%). Er was geen correlatie tussen de antilichaam klasse of het fenotype met de aanwezigheid van slijmvliesdeelname.

Alle studies werden uitgevoerd in het Centrum voor Blaarziekten in Groningen met uitzondering van de OLP studie, die deels werd uitgevoerd in het IPM BIOTECH in Hamburg.

